

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

IN RE APPLICATION OF: Daiki NINOMIYA, et al.

GAU:

SERIAL NO: NEW APPLICATION

EXAMINER:

FILED: HEREWITH

FOR: SEASONING AND THE PROCESS OF PRODUCING IT

REQUEST FOR PRIORITY

COMMISSIONER FOR PATENTS
ALEXANDRIA, VIRGINIA 22313

SIR:

- ☐ Full benefit of the filing date of U.S. Application Serial Number _____, filed _____, is claimed pursuant to the provisions of 35 U.S.C. §120.
- ☐ Full benefit of the filing date(s) of U.S. Provisional Application(s) is claimed pursuant to the provisions of 35 U.S.C. §119(e):
Application No. _____ Date Filed _____

☒ Applicants claim any right to priority from any earlier filed applications to which they may be entitled pursuant to the provisions of 35 U.S.C. §119, as noted below.

In the matter of the above-identified application for patent, notice is hereby given that the applicants claim as priority:

<u>COUNTRY</u>	<u>APPLICATION NUMBER</u>	<u>MONTH/DAY/YEAR</u>
Japan	2002-358575	December 10, 2002

Certified copies of the corresponding Convention Application(s)

- ☒ are submitted herewith
- ☐ will be submitted prior to payment of the Final Fee
- ☐ were filed in prior application Serial No. _____ filed _____
- ☐ were submitted to the International Bureau in PCT Application Number _____
Receipt of the certified copies by the International Bureau in a timely manner under PCT Rule 17.1(a) has been acknowledged as evidenced by the attached PCT/IB/304.
- ☐ (A) Application Serial No.(s) were filed in prior application Serial No. _____ filed _____; and
- ☐ (B) Application Serial No.(s) _____
☐ are submitted herewith
- ☐ will be submitted prior to payment of the Final Fee

Respectfully Submitted,

OBLON, SPIVAK, McCLELLAND,
MAIER & NEUSTADT, P.C.



Stephen G. Baxter

Registration No. 32,884

Customer Number

22850

Tel. (703) 413-3000
Fax. (703) 413-2220
(OSMMN 05/03)

Vincent K. Shier, Ph.D.

Registration No. 50,552

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日 2 0 0 2 年 1 2 月 1 0 日
Date of Application:

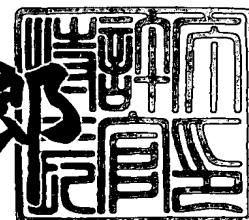
出 願 番 号 特 願 2 0 0 2 - 3 5 8 5 7 5
Application Number:
[ST. 10/C]: [J P 2 0 0 2 - 3 5 8 5 7 5]

出 願 人 味の素株式会社
Applicant(s):

2 0 0 3 年 7 月 1 0 日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

太田信一郎





【書類名】 特許願

【整理番号】 P-B0517

【提出日】 平成14年12月10日

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 A23L 1/23

【発明の名称】 調味料及びその製造法

【請求項の数】 15

【発明者】

【住所又は居所】 神奈川県川崎市川崎区鈴木町 1 - 1 味の素株式会社内

【氏名】 二宮 大記

【発明者】

【住所又は居所】 神奈川県川崎市川崎区鈴木町 1 - 1 味の素株式会社内

【氏名】 鯉渕 恭子

【発明者】

【住所又は居所】 神奈川県川崎市川崎区鈴木町 1 - 1 味の素株式会社内

【氏名】 平井 佐知

【発明者】

【住所又は居所】 神奈川県川崎市川崎区鈴木町 1 - 1 味の素株式会社内

【氏名】 岡村 英喜

【特許出願人】

【識別番号】 000000066

【氏名又は名称】 味の素株式会社

【代理人】

【識別番号】 100089244

【弁理士】

【氏名又は名称】 遠山 勉

【選任した代理人】

【識別番号】 100090516

【弁理士】

【氏名又は名称】 松倉 秀実

【選任した代理人】

【識別番号】 100100549

【弁理士】

【氏名又は名称】 川口 嘉之

【連絡先】 0 3 - 3 6 6 9 - 6 5 7 1

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 012092

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 調味料及びその製造法

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 植物タンパク質を含む原料にタンパク質を分解する能力を有する微生物を作用させて得られる調味料であって、アミノ酸化率が 65%以上、イソブチルアルコール濃度が 0.1 mg/g・窒素以下、ノルマルブチルアルコール濃度が 0.25 mg/g・窒素以下、イソアミルアルコール濃度が 0.5 mg/g・窒素以下、かつ、酢酸濃度が 100 mg/g・窒素以下であることを特徴とする調味料。

【請求項 2】 前記植物タンパク質を含む原料は脱脂大豆である請求項 1 に記載の調味料。

【請求項 3】 前記微生物はアスペルギルス属に属する糸状菌である請求項 1 又は 2 に記載の調味料。

【請求項 4】 前記微生物はアスペルギルス・オリゼ又はアスペルギルス・ソヤである請求項 3 に記載の調味料。

【請求項 5】 以下の工程：

(i) 植物タンパク質を含む原料にタンパク質を加水分解する能力を有する微生物を接種して固体麹を作製する工程、及び、

(ii) 得られた固体麹に、前記タンパク質の加水分解反応が阻害されない程度の食塩濃度となるように仕込み液を加えて諸味を形成し、この諸味を発酵させて前記タンパク質を加水分解させる工程、

を含む調味料の製造方法であって、

前記工程 (i) において $10^8 \sim 10^{11}$ 個/g・原料もしくはそれ以上の乳酸菌を前記原料に添加し、かつ、必要により、前記工程 (ii) において $10^8 \sim 10^{11}$ 個/g・諸味もしくはそれ以上の乳酸菌を前記諸味に添加し、

前記調味料が、アミノ酸化率が 65%以上、イソブチルアルコール濃度が 0.1 mg/g・窒素以下、ノルマルブチルアルコール濃度が 0.25 mg/g・窒素以下、イソアミルアルコール濃度が 0.5 mg/g・窒素以下、かつ、酢酸濃度が 100 mg/g・窒素以下であることを特徴とする方法。

【請求項 6】 前記工程 (ii) の諸味の食塩濃度が 5 重量%以下である請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】 前記植物タンパク質を含む原料は脱脂大豆である請求項 5 又は 6 に記載の方法。

【請求項 8】 前記脱脂大豆は、エクストルーダー処理により水溶性窒素指数 (NSI) 8～20 まで加熱変性膨化を行ったものである請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】 前記工程 (ii) を、5～45℃で 40～144 時間行う請求項 5～8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】 前記工程 (ii) の諸味の pH が 4～10 である請求項 5～9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 11】 前記工程 (ii) において、諸味のヘッドスペースを、ヘッドスペース容積の 2～10 倍の窒素で置換することを特徴とする請求項 5～10 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 12】 前記窒素置換量をヘッドスペース容積の 5～8 倍で行う請求項 11 に記載の方法。

【請求項 13】 前記タンパク質を加水分解する能力を有する微生物はアスペルギルス属に属する糸状菌である請求項 5～12 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 14】 前記タンパク質を加水分解する能力を有する微生物はアスペルギルス・オリゼ又はアスペルギルス・ソヤである請求項 13 に記載の方法。

【請求項 15】 前記乳酸菌はラクトコッカス・ラクティスである請求項 5～14 のいずれか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明はアミノ酸組成物、より詳細には大豆タンパクを主原料とするタンパク性麹を加水分解し、タンパクに含まれるアミノ酸の 65%以上を遊離して得られるアミノ酸組成物、該組成物を製造する方法に関するものである。

【0002】

【従来の技術】

従来より、加工食品やつゆ・たれ類、漬物液などの各種調味料にうま味やコク味などの呈味を付与する際に、グルタミン酸などのアミノ酸やペプチドを含有する調味素材が用いられてきた。このような素材のなかでも、大豆などの植物性タンパクや牛、豚、鶏肉などの動物性タンパクを酸や酵素で分解したものがよく用いられる。特に植物性タンパクを酸分解して得られるアミノ酸液（HVP: Hydrolyzed Vegetable Protein）や日本の伝統的な発酵調味料である醤油はその代表である。

【0003】

HVPは、大豆などのタンパクを豊富に含有する穀物を高温下、塩酸で加水分解することで製造されているため、タンパク質のほぼ100%がアミノ酸にまで分解され、グルタミン酸などのうまみを呈するアミノ酸を多量に含む。また、酸性高温条件下での分解反応のため、糖、アミノ酸、有機酸、脂質から化学反応によって、HVP独特のフレーバー、呈味を発現する物質が生成する。例えば、フレーバー成分としてソトロン、呈味成分として蟻酸やレブリン酸が生成することが知られている。

【0004】

また醤油は、伝統的な製造方法においては、まず原料の脱脂大豆を蒸煮後、これにほぼ等量の炒割小麦を混合し、これに種麴を接種して製麴する。得られた麴を食塩水に仕込み、諸味とし、長期間発酵及び熟成して製造されるものである。その呈味はアミノ酸とペプチドによるものであるが、タンパクの分解が50%くらいしか進んでいないため、HVPに比べてアミノ酸、特にグルタミン酸含有量が低く、呈味力価にかける。また、醤油は半年以上の熟成を行う中で、酵母、乳酸菌の働きによって各種アルコール類、エステル類、酢酸などの有機酸を生成するため、独特の醤油香を有している。

【0005】

このように、HVP、醤油は各種加工食品や調味料にうま味やコク味といった呈味、独特のフレーバーを付与する機能を有する優れた基本調味素材として洋の

東西を問わず使用されてきたが、液体で10～20%の食塩を含有しているため、多量に使用すると塩味が強くなりすぎて、求める強さのうま味、コク味を発揮させられないという問題点がある。また、使用する加工食品によっては、含有している食塩が加工食品の物性や味に影響を与えるため、使用量が限定されてしまい、その結果、求める強さのうま味、コク味を付与できないといった問題もある。例えば、かまぼこなどの水産練り物は、食塩を多く加えると固形化する、いわゆる‘すわり’が悪くなることが知られているため、多くのHVP、醤油を添加することは出来ない。従って、うま味、コク味を付与する基本調味素材としては、食塩を多量に含有していないものが望ましい。

【0006】

多量の食塩を含有しておらず、うま味、コク味は元のまま持っているHVPや醤油を作ることができれば、食塩の濃度は任意に調整することが可能になり、今まで以上に食品メーカーが使用できる機会が増えるだけでなく、うま味、コク味を加工食品、各種調味料に広く加えることができるようになる。また、不必要な食塩を結果として食品中に入れることがなくなるので、消費者の食塩摂取量も減らすことができるメリットがある。食塩の摂取量を減らすために、本醸造の醤油を脱塩して製造した減塩醤油があるが、食塩と一緒に醤油のもつうま味、コク味も減少してしまう問題があり、前記の目的にかなうものではない。

【0007】

HVP、醤油のもつ食塩の問題に加え、上述したように、HVP、醤油とも独特強いフレーバーを有しているため、食品、調味料に多量に使用すると添加する加工食品や調味料の風味バランスを壊してしまう問題点がある。特に、他の食品素材、調味素材がもつ風味をマスクしてしまうため、消費者が求める食品の複雑な風味がなくなり、例えば醤油風味だけが強い薄っぺらい風味になってしまう問題点がある。このような例としてめんつゆが挙げられる。めんつゆは主に鰹節からとる‘だし’と醤油である‘かえし’を混合したものであるが、醤油の香気成分、例えばイソブチルアルコール (iba)、ノルマルブチルアルコール (nba)、イソアミルアルコール (iaa) などが鰹のだし風味をマスクしてしまい、風味が悪くなるといった問題がある(特許文献1)。

【0008】

従って、うま味、コク味などの呈味を付与する基本調味素材としては、フレーバーがあまり強くないものが望ましい。このようなフレーバーが少ない調味料が得られれば、HVPフレーバーや醤油フレーバーが必要であれば、HVP、醤油を一部混合して用いることもできる。また、他の食品素材、調味素材の風味をマスクしない適当な量のフレーバーを任意に付与することも可能である。

【0009】

これまでに、フレーバーの少ない醤油としては、醤油に窒素ガスを吹き込むことによりiba、nba、iaaなどの醤油の香気成分を減少させた脱臭醤油（特許文献1）や、固体麴を食塩非存在下で高温短時間分解することによって作製した醤油（特許文献2）が開発されている。

【0010】

これまで述べてきたように、うま味やコク味などの呈味を付与する基本調味素材としては、食塩を含まず、強いフレーバー成分を含まないものが望ましいが、呈味力価の点では、原料タンパクに含まれるアミノ酸が少なくとも醤油以上、できればHVP並みにほぼ100%遊離されているものが望ましい。HVPの高アミノ酸化率は、その製造方法、すなわち酸分解によるものである。しかしながら酸分解の過程で生じる3-MCPDについて、欧州で上限が設定されるなど、規制は強まっており、今後新しく開発する基本調味素材の製造方法は酸分解ではなく、醤油と同じ伝統的な固体麴法を採用することが望ましい。

【0011】

以上のような状況をまとめると、うま味、コク味を付与する基本調味素材として、伝統的な固体麴法で製造され、食塩を含まず、窒素あたりのアミノ酸含有率がHVP並に高く、強いフレーバー成分を含まないものが望まれている。

【0012】

固体麴法による醤油の製造において、アミノ酸含量を高める方法として、麴の加水分解を食塩を含ませずに2～25℃で行う方法が開発されている（特許文献3）。しかし、この方法では、アミノ酸含量は高くなるものの、加水分解後に発酵麴に食塩を添加して、得られた諸味を発酵させるため、塩分を含むという問題

がある。また、麴と酵母の混合物を、食塩の非存在下、2～25℃で加水分解する方法が開示されている（特許文献4）。しかし、この方法は酵母を用いているため、必然的にフレーバー成分を含んでいる。

【0013】

また、アスペルギルス・オリゼの野生株よりも、エンドペプチダーゼ及びエキソヌクレアーゼ活性が2倍以上高い麴菌を用いて、醤油や矯味剤を製造する技術が開示されている（特許文献5）が、やはり食塩を含むという問題がある。

【0014】

ところで、タンパク質含有材料と炭水化物から発酵タンパク質麴を調製し、15℃～60℃の温度と4.5～10のpHで6時間～28日間発酵タンパク質麴を加水分解する際に、発酵タンパク質麴g当り $10^3 \sim 10^7$ cfuの乳酸菌を、発酵タンパク質麴段階又は加水分解段階のいずれかにおいて接種する方法が開示されている（特許文献6）。食塩の不存在下での低温における加水分解では、望ましくない微生物が生育する危険があるために、この方法では乳酸菌の培養物を摂取することにより、前記微生物の生育から麴を保護するというものである。しかし、上記接種菌体量では製麴中、分解中に増殖がおこることから、特に分解中に遊離したアミノ酸を資化してしまい、アミノ酸収率が落ちるという問題がある。

。

【0015】

尚、発酵調味料の製造において、原料を乳酸発酵させたものを用いて製麴する方法（特許文献7）が知られているが、この方法では、麴は食塩水を用いて仕込まれる。

【0016】

【特許文献1】

特許2862719号公報

【特許文献2】

特願2002-103013号

【特許文献3】

米国特許第5,523,100号公報

【特許文献4】

米国特許第5, 888, 561号公報

【特許文献5】

米国特許第6, 090, 607号公報

【特許文献6】

米国特許第5, 965, 178号公報

【特許文献7】

特許第3027352号

【0017】**【発明が解決しようとする課題】**

本発明は、植物タンパクを醤油と同じ固体麹法で分解して得られる調味料であって、食塩を含まないか、又は食塩含量が低く、アミノ酸化率が高く、かつ、強いフレーバー成分をほとんど含まない調味料、ならびにその製造方法を提供することを課題とする。

【0018】**【課題を解決するための手段】**

本発明者らは、上記課題を解決するために鋭意検討を行った結果、醤油に含まれるイソブチルアルコール、ノルマルブチルアルコール、イソアミルアルコールなどの香気成分に加えて酢酸が、他の調味料や食品素材の呈味や風味をマスクすること、及び、これらの含量を低減することによって、優れた調味料が得られることを見出した。そして、醤油の製造において、製麹及び麹の加水分解（発酵）工程の両方で適量の乳酸菌を存在させることにより、食塩を添加することなく、上記香気成分が低減した調味料を得ることに成功した。

すなわち本発明は、以下のとおりである。

【0019】

(1) 植物タンパク質を含む原料にタンパク質を加水分解する能力を有する微生物を作用させて得られる調味料であって、アミノ酸化率が65%以上、イソブチルアルコール濃度が0.1mg/g・窒素以下、ノルマルブチルアルコール濃度が0.25mg/g・窒素以下、イソアミルアルコール濃度が0.5mg/g・

窒素以下、かつ、酢酸濃度が 100 mg/g ・窒素以下であることを特徴とする調味料。

(2) 前記植物タンパク質を含む原料は脱脂大豆である (1) の調味料。

(3) 前記微生物はアスペルギルス属に属する糸状菌である (1) 又は (2) の調味料。

(4) 前記微生物はアスペルギルス・オリゼ又はアスペルギルス・ソヤである (3) の調味料。

(5) 以下の工程：

(i) 植物タンパク質を含む原料にタンパク質を加水分解する能力を有する微生物を接種して固体麹を作製する工程、及び、

(ii) 得られた固体麹に、前記タンパク質の加水分解反応が阻害されない程度の食塩濃度となるように仕込み液を加えて諸味を形成し、この諸味を発酵させて前記タンパク質を加水分解させる工程、

を含む調味料の製造方法であって、

前記工程 (i) において $10^8 \sim 10^{11}$ 個/g・原料もしくはそれ以上の乳酸菌を前記原料に添加し、かつ、必要により、前記工程 (ii) において $10^8 \sim 10^{11}$ 個/g・諸味もしくはそれ以上の乳酸菌を前記諸味に添加し、

前記調味料が、アミノ酸化率が 65% 以上、イソブチルアルコール濃度が 0.1 mg/g ・窒素以下、ノルマルブチルアルコール濃度が 0.25 mg/g ・窒素以下、イソアミルアルコール濃度が 0.5 mg/g ・窒素以下、かつ、酢酸濃度が 100 mg/g ・窒素以下であることを特徴とする方法。

(6) 前記工程 (ii) の諸味の食塩濃度が 5 重量% 以下のものである (5) の方法。

(7) 前記植物タンパク質を含む原料は脱脂大豆である (5) 又は (6) の方法。

(8) 前記脱脂大豆は、エクストルーダー処理により水溶性窒素指数 (NSI) 8～20 まで加熱変性膨化を行ったものである (7) の方法。

(9) 前記工程 (ii) を、 $5 \sim 45^\circ\text{C}$ で 40～144 時間行う (5)～(8) のいずれかの方法。

(10) 前記工程 (ii) の諸味の pH が 4 ~ 10 である請求項 (5) ~ (9) のいずれかの方法。

(11) 前記工程 (ii) において、諸味のヘッドスペースをヘッドスペース容積の 2 ~ 10 倍の窒素で置換することを特徴とする (5) ~ (10) のいずれかの方法。

(12) 前記窒素置換量をヘッドスペース容積の 5 ~ 8 倍で行う (11) の方法。

(13) 前記タンパク質を加水分解する能力を有する微生物はアスペルギルス属に属する糸状菌である (5) ~ (12) のいずれかの方法。

(14) 前記タンパク質を加水分解する能力を有する微生物はアスペルギルス・オリゼ又はアスペルギルス・ソヤである (13) の方法。

(15) 前記乳酸菌はラクトコッカス・ラクティスである (5) ~ (14) のいずれかの方法。

【0020】

【発明の実施の形態】

以下、本発明を詳細に説明する。

本発明の調味料は、植物タンパク質を含む原料にタンパク質を加水分解する能力を有する微生物を作用させて得られる調味料であって、アミノ酸化率が 65 % 以上、イソブチルアルコール濃度が 0.1 mg / g ・窒素以下、ノルマルブチルアルコール濃度が 0.25 mg / g ・窒素以下、イソアミルアルコール濃度が 0.5 mg / g ・窒素以下、かつ、酢酸濃度が 100 mg / g ・窒素以下であることを特徴とする調味料である。

【0021】

上記アミノ酸化率は、好ましくは 80 % 以上、より好ましくは 85 % 以上である。上記イソブチルアルコール濃度は、好ましくは 0.08 mg / g ・窒素以下、より好ましくは 0.06 mg / g ・窒素以下である。ノルマルブチルアルコール濃度は、好ましくは 0.1 mg / g ・窒素以下、より好ましくは 0.05 mg / g ・窒素以下である。また、イソアミルアルコール濃度は、好ましくは 0.4 mg / g ・窒素以下、より好ましくは 0.3 mg / g ・窒素以下である。さらに

、酢酸濃度は、好ましくは 60 mg/g ・窒素以下、より好ましくは 30 mg/g ・窒素以下である。

【0022】

窒素量は、例えばケールダール法により測定することができる。また、アミノ酸量はアミノ酸アナライザーにより、酢酸は有機酸アナライザーにより、香気成分はガスクロマトグラフィーにより、それぞれ測定することができる。

【0023】

本発明において「アミノ酸化率」とは、分解液中に含まれる総アミノ酸量に対する遊離アミノ酸の割合である。

【0024】

上記植物タンパク質を含む原料としては、食品に適し、かつ、タンパク質を加水分解する能力を有する微生物により効率よくアミノ酸に分解されるものであれば特に制限されないが、例えば、穀類、豆類が挙げられる。より具体的には、大豆、特に脱脂大豆が挙げられる。本発明においては、原料は1種でもよく、2種以上の混合物であってもよい。原料として特に好適なのは脱脂大豆であるが、脱脂大豆に適当量の小麦粉などを混合してもよい。

【0025】

タンパク質を加水分解する能力を有する微生物としては、植物タンパク質を、アミノ酸化率が65%以上となるように加水分解することができ、食品の製造に適し、かつ、プロテアーゼ、ペプチダーゼなどのタンパク質分解酵素を細胞外に分泌する微生物が好ましい。このような微生物としては、アスペルギルス (*Aspergillus*) 属、リゾプス (*Rhizopus*) 属、ムコール (*Mucor*) 属、モナスカス (*Monascus*) 属等に属する微生物が挙げられる。これらの中では、アスペルギルス属が好ましく、具体的には、アスペルギルス・オリゼ (*A. oryzae*)、アスペルギルス・ソーヤ (*A. sojae*)、アスペルギルス・アワモリ (*A. awamori*)、アスペルギルス・ニジュランズ (*A. nidulans*)、アスペルギルス・ニガー (*niger*) 等が挙げられる。これらの微生物の中でも特にアスペルギルス・オリゼ及びアスペルギルス・ソーヤが好ましい。

【0026】

上記のような本発明の調味料は、アミノ酸化率が65%以上あるため、アミノ酸の呈味力価が醤油より高い。また、醤油の香気成分であるイソブチルアルコール、ノルマルブチルアルコール及びイソアミルアルコールの濃度が従来の醤油よりも低い。さらに、酢酸濃度が低いため、本発明の調味料は、従来の醤油や、窒素ガスを吹き込むことにより香気成分を減少させた脱臭醤油（特許第2862719号）に比べて、他の調味料や食品素材の呈味や風味をマスクすることがなく、うま味やコク味を与えることができる。また、食塩を含まないか、又はその含有量が少ないため、食塩の使用量が制限される食品に好適に使用することができる。さらに、必要に応じて、本発明の調味料又はそれを用いた食品に、適当な量の食塩を添加し、所望の食塩濃度とすることもできる。

【0027】

次に、本発明の調味料の製造方法について説明する。本発明の調味料は、例えば、以下の工程により製造される。

【0028】

(i) 植物タンパク質を含む原料にタンパク質を加水分解する能力を有する微生物を接種して麴を作製する工程（製麴工程）。

(ii) 得られた麴に、前記タンパク質の加水分解反応が阻害されない程度の食塩濃度となるように仕込み液を加えて諸味を形成し、この諸味を発酵させて大豆タンパク質を加水分解させる工程（発酵工程とも言う）。

【0029】

まず、製麴工程について説明する。

上記植物タンパク質を含む原料としては、食品に適し、かつ、タンパク質を加水分解する能力を有する微生物により効率よくアミノ酸に分解されるものであれば特に制限されないが、例えば、穀類、豆類が挙げられる。より具体的には、大豆、特に脱脂大豆が挙げられる。本発明においては、原料は1種でもよく、2種以上の混合物であってもよい。原料として特に好適なのは脱脂大豆であるが、脱脂大豆に適当量の小麦粉などを混合してもよい。

【0030】

尚、脱脂大豆は、エクストルーダーで加熱変性膨化させた後、乾燥させて乾燥

パフ豆とすることが好ましい。そうすることによって、タンパク質を加水分解する能力を有する微生物が大豆の内部に入り込みやすくなり、また、原料の水分含量を、麴菌の生育に適した35～45%に調整しやすくなる。さらに、多量の乳酸菌の接種が可能となる。加熱変性膨化は、水溶性窒素指数（NSI）が8～20となるように行うことが好ましい。

【0031】

上記のような原料に、タンパク質を加水分解する能力を有する微生物を接種して、麴を作製する。本発明においては、麴は固体麴及び液体麴のいずれも適用することができるが、固体麴の方が前記微生物から産生されるプロテアーゼ、ペプチダーゼなどのタンパク質分解酵素の種類、量ともに多く、アミノ酸化率が高いと考えられることから、固体麴が好ましい。

【0032】

本発明においては、前記製麴工程及び発酵工程のうち、少なくとも製麴工程において、 $10^8 \sim 10^{11}$ 個/g・原料もしくはそれ以上の乳酸菌を前記原料に添加する。後述するように、本発明では、固体麴の加水分解を、麴菌による加水分解反応が阻害されない程度の食塩濃度、例えば食塩濃度が5重量%以下で行う。

「加水分解反応が阻害されない程度」とは、実質的に加水分解反応が阻害されないことに加えて、その阻害が本願発明の効果を損なわない程度に小さい場合を含む。具体的には、アミノ酸化率が65%以上、好ましくは80%以上、より好ましくは85%以上であれば、加水分解反応が阻害されないといえる。従来の醤油麴においては、出麴の段階で $10^6 \sim 10^{10}$ 個/g・麴のバクテリアが存在しており、このような麴を低塩濃度で仕込み液と混合すれば、数時間で腐敗してしまう。特に脱脂大豆のみを原料に用いた場合は、蒸煮後の水分含量が50～60%と非常に高くなるため、乾燥した小麦を等量混合して作る醤油麴よりも納豆菌を始めとする微生物汚染が起りやすくなる。そこで、本発明においては、原料及び麴に乳酸菌を接種することにより、汚染菌の生育を抑制し、汚染菌の増殖により生じる異常発酵、及び腐敗から麴を保護することとした。

【0033】

本発明において、製麴は、乳酸菌を接種する以外は、通常の醤油に製造におけ

る製麴と同様にして行うことができる。具体的には、タンパク質原料を、水、乳酸菌及び種麴と混合する。水は、混合物全量に対して 3 5 ～ 4 5 重量%、好ましくは 3 7 ～ 4 2 重量%とるように添加することが好ましい。乳酸菌は、 $10^8 \sim 10^{11}$ 個/g・原料以上、好ましくは $10^9 \sim 10^{10}$ 個/g・原料となるように接種される。特に、製麴の初期の段階で上記範囲で乳酸菌を接種することによって、麴中で優勢菌叢を保たせ、他の雑菌が増殖する余地を排除することが可能となる。

【0 0 3 4】

乳酸菌としては、タンパク質を加水分解する能力を有する微生物の活動を実質的に阻害しないものであって、好ましくない汚染菌の生育を抑制することができるものであれば特に制限されず、例えば、ラクトバチルス (*Lactobacillus*) 属、及びラクトコッカス (*Lactococcus*) 属等に属する細菌が挙げられる。これらの中では、ラクトコッカス属が好ましく、より具体的にはラクトコッカス・ラクティス (*L. lactis*) が挙げられる。

【0 0 3 5】

水及び乳酸菌は、乳酸菌の培養液として原料と混合することができる。具体的には、例えば、加熱変性膨化させた原料に乳酸菌培養液を撒水する。乳酸菌の培養液は、 $10^8 \sim 10^{11}$ 、できれば $10^9 \sim 10^{10}$ 個/mLの菌体を含むことが好ましい。乳酸菌の菌数は、顕微鏡下における計数、又は生育に適した寒天培地における c f u (colony forming unit) を計数することによって、測定することができる。

【0 0 3 6】

また、種麴は、通常、孢子数が $10^6 \sim 10^7$ 個/g・原料となるように添加する。種麴の孢子数は、乳酸菌の菌数と同様にして測定することができる。

製麴工程は、通常、2 2 ～ 4 0℃、好ましくは 2 8 ～ 3 5℃で、2 4 ～ 7 2 時間、好ましくは 3 8 ～ 6 0 時間静置することにより行われる。製麴開始から 1 8 ～ 2 8 時間後に、手入れ（混合）を行ってもよい。

【0 0 3 7】

次に、発酵工程について説明する。

上記のようにして作製された麴に仕込み液を加えて諸味を形成し、この諸味を発酵させて大豆タンパク質を加水分解させる。本発明においては、通常、仕込み液又は諸味には食塩を添加せず、食塩濃度は、諸味全量に対して、好ましくは5重量%以下、より好ましくは2重量%以下となるようにする。尚、諸味は乳酸菌培養液等に由来する塩分を少量含んでいてもよい。

【0038】

発酵工程においては、諸味に乳酸菌を添加することは必須ではないが、添加することが好ましい。諸味に乳酸菌を添加する場合、乳酸菌は、 $10^8 \sim 10^{11}$ 個/g・諸味もしくはそれ以上、好ましくは $10^9 \sim 10^{10}$ 個/g・諸味となるように接種する。発酵工程の初期の段階から乳酸菌数を多くすることによって、乳酸菌がさらに増殖することにより加水分解で生じたアミノ酸が資化されることを抑制することができる。

【0039】

仕込み液は、麴の重量に対して、通常1.5～5倍、好ましくは2～4倍量加えることが望ましい。仕込み液及び乳酸菌は、乳酸菌の培養液として原料と混合することができる。そのような場合、乳酸菌の培養液は、 $10^9 \sim 10^{10}$ 個/mLの菌体を含むことが好ましい。

【0040】

発酵工程は、乳酸菌が生育可能な温度、具体的には通常5～45℃、好ましくは30～37℃で、40～144時間、好ましくは48～96時間行われる。また、諸味のpHは、好ましくは4～10、より好ましくは5～7に調整される。

【0041】

また、発酵工程は、仕込み液諸味のヘッドスペースを窒素ガスで置換することが望ましい。このことによって、好気性汚染菌の繁殖を抑制することができる。窒素置換の度合いは例えば、諸味を入れたタンクのヘッドスペース容積の、2～10倍量、好ましくは5～8倍量の窒素ガスで置換し、タンクを密閉することによって行うことができる。

【0042】

上記のようにして発酵工程を行うことにより、汚染菌の生育又は増殖を防ぐこ

とができる。また、通常の醤油の製造に関与する酵母もほとんど生育しないために、醤油香が減少すると考えられる。

【0043】

発酵工程の終了後は、通常の醤油と同様の処理を行うことができる。例えば、発酵が終了した諸味を濾過して固形物を除去した後、60℃～120℃で殺菌する。あるいは、諸味を殺菌した後に濾過してもよい。また、得られた諸味を、他の発酵調味料又は発酵食品の原料とすることもできる。

【0044】

【実施例】

本発明を以下の実施例によりさらに具体的に説明する。本発明はこの実施例により限定されるものではない。

尚、本実施例において、「TN」は窒素を、「gTN」はグラム・窒素を表す。

【0045】

【実施例1】

膨化脱脂大豆（味の素(株)製 プロテインTY、NSI15）360gに、 $10^9 \sim 10^{10}$ 個/mLの菌体を含み、pH6.3に調整した乳酸菌培養液（*L. lactis* IF012007）を180mL添加し、さらに麹菌（*A. oryzae* JCM2231）の胞子を 2×10^6 個/g・原料となるように混合後、常法に従い30～32℃で48時間製麹を行った。麹の品温が32℃を上回った18及び25時間後に麹の混合を行った。混合物の水分含量は37%であった。

【0046】

得られた麹500gを、 $10^9 \sim 10^{10}$ 個/mLの菌体を含み、pH6.3に調整した乳酸菌培養液（*L. lactis* IF012007）2Lに添加し、ピンチコックを介して外気と容器内が遮断可能な耐圧瓶に投入した。容器のヘッドスペースに、常圧でヘッドスペースの5倍量に相当する量の窒素ガスを注入後、ピンチコックを閉めて容器内を密閉し、インキュベーター内で35℃で24時間、48時間、96時間、144時間、及び240時間静置することにより、麹による脱脂大豆タンパク質の加水分解を行った。

【0047】

加水分解された混合物を圧搾して加水分解液を調製後、この液体を 80℃で 30 分間処理することにより、殺菌を行った。これを一晚 4℃でインキュベート後、固形分をろ過で取り除いた。得られた清澄な液体 2 L に 20 g の活性炭（活性炭 BA：味の素ファインテクノ社製）を添加し、常時攪拌しながら 50℃で 30 分間インキュベートし、脱臭及び脱色を行った。最後に、この溶液を濾過して活性炭を除去し、最終産物である調味液を得た。

【0048】

以上の操作によって取得した調味液について、ケールダール法による窒素（TN）の分析、アミノ酸アナライザー（日立 L-8000）法によるアミノ酸（総アミノ酸）の測定、有機酸アナライザー（日立 L-7000）による各種有機酸濃度の測定、糖分析計（日立 L-6000）による各種糖濃度の測定、ガスクロマトグラフィーによる香気成分の分析、pH の測定、及び 10 名からなる官能評価パネルによる単純溶液系による官能評価試験を実施した。

【0049】

単純溶液系での官能評価の方法として、各試料を、窒素濃度（T-N）= 0.1%、食塩濃度 = 1.0% になるように希釈、補塩し、室温の状態で官能評価を行った。

【0050】

各分解時間における試作品の成分分析結果と、単純溶液系での官能評価結果を、及び市販の濃口醤油と比較し、表 1 に示した。

【0051】

【表 1】

表 1

分解時間	24時間	48時間	96時間	144時間	240時間	濃口醤油
アミノ酸化率 (%)	61	81	83	84	84	52
iba (mg/gTN)		0.05	0.06	0.04		0.33
nba (mg/gTN)		0.02	0.01	0.01		0.66
iaa (mg/gTN)		0.28	0.32	0.45		1.28
酢酸 (mg/gTN)	20	20	70	80	73	143
官能評価	うま味弱い、呈味力価が低い	うま味、先味強い 厚み 後味ひく	うま味、先味強い 厚み	うま味、先味強い 厚み良好な呈味であるが、96時間分解と比較した場合には、若干呈味が弱い	厚み少なくすっきりした呈味、うま味弱い	うま味と独特の醤油香

【0052】

その結果、48時間以上分解することで、アミノ酸化率が80%以上に達すると共に、醤油に特徴的なイソブチルアルコール (iba)、n-ブチルアルコール (nba)、イソアミルアルコール (iaa)、酢酸などの香気成分をほとんど含まないことがわかった。本発明で得られる調味液の呈味は、うま味、先味が強く、厚みがあることが特徴であり、醤油よりは酸分解アミノ酸液の特徴にはるかに近かった。中でも特に、分解時間が48時間から144時間の調味液で、うま味、先味、厚みが強く感じられた。48時間分解の場合はペプチドが少し残るので、「後味がひく」呈味となる。

【0053】

また、臭いについては、酸分解アミノ酸や醤油に独特の強いフレーバーは感じられず、若干の穀物臭がするだけであった。分解時間による差はほとんどなかった。従って、以下の実施例では、分解時間は48時間から144時間で行うこと

とした。【0054】

【実施例 2】

固体麴の加水分解における、加水分解温度と、製造の安定性、及び得られた調味液の呈味などとの関係について調べた。加水分解温度は 30、35、及び 37℃で行った。分解時間は 96 時間で行った。

【0055】

実施例 1 記載の方法で得られた固体麴 500 g を、 $10^9 \sim 10^{10}$ 個/mL の菌体を含み、pH 6.3 に調整した乳酸菌培養液 (L. lactis IF012007) 2 L に添加し、ピンチコックを介して外気と容器内が遮断可能な耐圧瓶に投入した。容器のヘッドスペースに、ヘッドスペース容積の 5 倍量の窒素ガスを注入後、ピンチコックを閉めて容器内を密閉し、インキュベーター内で上記の各温度にて 96 時間の加水分解を行った。その後、実施例 1 記載の方法で分解物の処理を行い、調味液を得た。

【0056】

分解温度を振った試作品の成分分析結果、単純溶液系での官能評価結果、及び加水分解終了後の微生物分析の結果を比較し、表 2 に示した。

【0057】

【表 2】

表 2

	30℃	35℃	37℃
アミノ酸化率 (%)	81	83	84
i b a (mg/g TN)		0.06	
n b a (mg/g TN)	—	0.02	—
i a a (mg/g TN)	—	0.39	—
酢酸 (mg/g TN)	—	74	—
バクテリア *) (コ/g 諸味)	<20	<20	<20
酵母 (コ/g 諸味)	<20	<20	<20

*)接種した乳酸菌以外の菌
「—」は、未測定を示す。

【0058】

その結果、アミノ酸化率は分解温度 30～37℃では大差がなかった。

【0059】

従って、以下の実施例では、加水分解温度の温度はアミノ酸化率、静菌性の両面を考慮し、30～37℃とした。

【0060】

【実施例 3】

実施例 1 及び 2 では、加水分解時にタンク上部のヘッドスペースを窒素ガスで置換することで分解系全体を嫌気状態とし、バチルス・ズブチリスを始めとする偏性好気性菌の増殖を抑えたが、本実施例では加水分解中の静菌における必要性を調べた。

【0061】

膨化脱脂大豆 (味の素(株)製 プロテイン TY、NSI 15) 360g に $10^9 \sim 10^{10}$ 個/mL の菌体を含み、pH 6.3 に調整した乳酸菌培養液 (L. lactis IF012007) を 180 mL 添加し、さらに麹菌 (A. oryzae JCM2231) の胞子を

2×10⁶個/g・原料となるよう混合後、常法に従い30～32℃で48時間製麴を行った。混合物の水分含量は37%であった。次に、従来の醤油麴の製造法と同様に、麴を18及び25時間後に混合した。

【0062】

得られた麴500gを、10⁹個/mLの菌体を含み、pH6.3に調整した乳酸菌培養液(L. lactis IF012007)2Lに添加し、ピンチコックを介して外気と容器内が遮断可能な耐圧瓶に投入した。なお、乳酸菌の菌体数の調製は、10¹⁰個/mLの乳酸菌体を含む乳酸菌培養液を滅菌水で希釈して行った。容器のヘッドスペースに窒素ガスを注入し、ヘッドスペース容積の5倍の窒素ガスで置換し、ピンチコックを閉めて容器内を密閉し、インキュベーター内で35℃、48時間の加水分解を行った。また、対照区として窒素ガス置換しないでインキュベーター内で35℃、48時間の加水分解を行った。その後、実施例1記載の方法で分解物の処理を行い、調味液を得た。

【0063】

上記条件では、ヘッドスペースを窒素で置換しないと麴菌が諸味表面を覆い、その上に球菌、バチルス属などの汚染菌が増殖することがわかった。従って、諸味タンクのヘッドスペースは窒素で置換することが望ましいことがわかった。

【0064】

【実施例4】

本発明の調味液は、イソブチルアルコール(iba)、n-ブチルアルコール(nba)、イソアミルアルコール(iaa)を少量しか含まないため、だしと混合したときに、だし風味をマスクせず良好な風味を持つめんつゆを作製できると考えた。そこで、醤油区分を本発明の調味液で置き換えためんつゆを作製し、その官能評価を行った。

【0065】

醤油、かつお節(荒本節、枯れ節)、砂糖、みりん、食塩、L-グルタミン酸ナトリウム塩及び乳酸を主成分とするめんつゆの配合において、醤油区分を以下の調味料で置き換えた。

【0066】

- ① 本発明で得られた調味液（実施例 1 の 3 5 ℃、9 6 時間の条件で作製したもの。以下、同様）
- ② 市販濃口醤油
- ③ 脱臭醤油（特許 2 8 7 2 6 1 9 号公報に記載の方法で作製したもの）
- ④ 本発明で得られた調味液に酢酸を、市販濃口醤油が含有する量と等量添加した調味液

【 0 0 6 7 】

上記の各調味料を使用しためんつゆを、以下に示す配合で混合してめんつゆを作製し、それぞれについて官能評価した。

【 0 0 6 8 】

各めんつゆに含まれる i b a、n b a、i a a、及び酢酸の含有濃度を表 3 に示した。

上記 4 種類のめんつゆについて、専門味覚パネル（n = 4）による評価を行い、だし風味、燻臭が強いものから順位をつけ、順位法により総合評点をつけた。即ち、1 位 5 点、2 位 4 点、3 位 3 点、4 位 2 点、5 位 1 点とし、4 名のパネルの点数の合計を総合評点とした。結果を表 3 に示した。

【 0 0 6 9 】

【表 3】

表 3

	iba (ppm)	nba (ppm)	iaa (ppm)	酢酸 (ppm)	総合評点
①	1. 0	2. 0	4. 0	4 8 0	1 6 点
②	1. 3	2. 6	5. 1	5 9 0	5 点
③	1. 1	2. 2	4. 3	5 6 0	1 1 点
④	1. 0	2. 0	4. 0	5 9 0	8 点

【 0 0 7 0 】

その結果、本発明の調味液を醤油の代わりに使用しためんつゆが、最もだし風

味・燻臭を強く感じることがわかった。また、めんつゆのだし感、燻臭をマスクする成分としては、特許 2862719 号公報に開示されている i a a、i b a、n b a よりも酢酸の影響の方が大きいことがわかった。従って、本発明の調味液は、酢酸を含まないことで、素材の風味を生かす効果を有するものと推定される。

【0071】

【発明の効果】

本発明により、食塩を含まないか、又は食塩含量が低く、アミノ酸化率が高く、かつ、イソブチルアルコール、ノルマルブチルアルコール、イソアミルアルコール、及び酢酸が低減された調味料を製造することができる。

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 植物タンパクを固体麹法で分解して得られる調味料であって、食塩を含まないか、又は食塩含量が低く、アミノ酸化率が高く、かつ、強いフレーバー成分をほとんど含まない調味料、ならびにその製造方法を提供すること。

【解決手段】 以下の工程：

(i) 植物タンパク質を含む原料にタンパク質を加水分解する能力を有する微生物を接種して固体麹を作製する工程、及び、

(ii) 得られた固体麹に、前記タンパク質の加水分解反応が阻害されない程度の食塩濃度となるように仕込み液を加えて諸味を形成し、この諸味を発酵させて前記タンパク質を加水分解させる工程、

を含む調味料の製造方法であって、

前記工程 (i) において $10^8 \sim 10^{11}$ 個/g・原料以上の乳酸菌を前記原料に添加し、かつ、必要により、前記工程 (ii) において $10^8 \sim 10^{11}$ 個/g・諸味以上の乳酸菌を前記諸味に添加し、

前記調味料が、アミノ酸化率が 65% 以上、イソブチルアルコール濃度が 0.1 mg/g・窒素以下、ノルマルブチルアルコール濃度が 0.25 mg/g・窒素以下、イソアミルアルコール濃度が 0.5 mg/g・窒素以下、かつ、酢酸濃度が 100 mg/g・窒素以下であることを特徴とする方法。

【選択図】 なし

特願 2002-358575

出願人履歴情報

識別番号

[000000066]

1. 変更年月日 1991年 7月 2日
[変更理由] 住所変更
住 所 東京都中央区京橋1丁目15番1号
氏 名 味の素株式会社
2. 変更年月日 2003年 5月12日
[変更理由] 名称変更
住所変更
住 所 東京都中央区京橋1丁目15番1号
氏 名 味の素株式会社

書式8(第7条第1項関係)

「特許手続上の微生物の寄託の国際的承認
に関するブタペスト条約」

下記国際寄託当局によって規則7.1に従い
発行される。

BUDAPEST TREATY OF THE INTERNATIONAL
RECOGNITION OF THE DEPOSIT OF MICROORGANISMS
FOR THE PURPOSES OF PATENT PROCEDURE
RECEIPT IN THE CASE OF AN ORIGINAL DEPOSIT
issued pursuant to Rule 7.1 by the INTERNATIONAL
DEPOSIT AUTHORITY identified at the bottom of this page.

原寄託についての受託証

氏名 (名称)

味の素株式会社
代表取締役社長 江頭 邦雄 殿

あて名 〒104-8315
東京都中央区京橋一丁目15番1号

1. 微生物の表示	
(寄託者が付した識別のための表示) Lactococcus lactis AJ110212	(受託番号) FERM BP- 08552
2. 科学的性質及び分類学上の位置	
1株の微生物には、次の事項を記載した文章が添付されていた。 <input type="checkbox"/> 科学的性質 <input checked="" type="checkbox"/> 分類学上の位置	
3. 受領及び受託	
本国際寄託当局は、2003年11月19日(原寄託日)に受領した1株の微生物を受託する。	
4. 移管請求の受領	
本国際寄託当局は、年月日(原寄託日)に受領した1株の微生物を受託した。 そして、年月日に原寄託によりブタペスト条約に基づく寄託への移管請求を受領した。	
5. 国際寄託当局	
<p>名称 独立行政法人産業技術総合研究所 特許生物寄託センター</p> <p>International Patent Organism Depositary National Institute of Advanced Industrial Science and Technology</p> <p>センター長 岡 修 Dr. Syuichi Oka, Director</p> <p>あて名 日本国茨城県つくば市東1丁目1番地1 中央第6(郵便番号305-8566) AIST Tsukuba Central 6, 1-1, Higashi 1-Chome Tsukuba-shi, Ibaraki-ken 305-8566 Japan</p>	

平成 15 年 (03) 11 月 19 日